



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

此说明仅限参考

阴离子交换填料使用说明

凝胶型号	QAE 葡聚糖凝胶 A-25	QAE 葡聚糖凝胶 A-50	DEAE 葡聚糖凝胶 A-25	DEAE 葡聚糖凝胶 A-50
基团	$-\text{N}+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3\text{Cl}-$	$-\text{N}+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3\text{Cl}-$	$-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$	$-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$
载量	2-3 mmol/g	2-3mmol/g	2.5-3 mmol/g	2.5-3mmol/g
相应产品	QAE Sephadex-A25	QAE Sephadex-A50	DEAE Sephadex A-25	DEAE Sephadex A-50
颗粒大小	干粉 50-150 μm	干粉 50-150 μm	干粉 50-150 μm	干粉 50-150 μm
最大流速*	100cm/h	45cm/h	100cm/h	45cm/h
工作 pH 值	2-9	2-9	2-9	2-9
pH 稳定性	2-13	2-12	2-13	2-12

*HR 16/10 层析柱, 5 cm 柱床高度

1 使用方法

将干粉浸泡于纯水或缓冲液中, 液体加多一些没事, 凝胶会下沉。室温下完全溶胀需 1-2 天, 100 度热水泡大约半个小时。完全溶胀后除去上清液, 用缓冲液彻底清洗填料。

2 装柱

- 1) 将所有实验材料均需平衡至进行色谱层析操作的温度;
- 2) 缓冲液脱气处理;
- 3) 在柱子下端加入纯水装柱子, 以排除气泡, 将填料连续倒入柱子时, 要用玻璃棒紧靠柱子内壁引流, 以减少气泡的产生, 让填料先自然沉降到填料体积不再变化, 用上样的平衡液平衡柱后即可上样。当流出液的 pH 和或电导率与起始缓冲液相同时, 层析柱即完全平衡。

3 上样



样品应溶解在起始平衡缓冲液中, 或者, 通过透析或通过使用脱盐柱进行缓冲液置换, 将样品缓冲液转移至起始平衡缓冲液。样品的粘度不应超过平衡缓冲液。上样前必须使用 0.45um 滤膜对样品进行过滤。

最常见的程序是让目标分子结合到离子交换柱上, 其他杂质流出。然而, 在一些情况下结合杂质而使目标分子不结合而穿透柱子, 也是可以的。

对于目标分子的吸附, 选择具有适当 pH 的缓冲液是至关重要的, 请参考下表。

缓冲液的离子强度应保持较低, 以免干扰样品结合, 推荐的操作 pH 在缓冲液的 pKa 的 0.5pH 单位内, 并且高于目标分子的等电点 (pI) 至少一个 pH 单位。

Buffers for anion exchange chromatography

pH interval	Substance	Conc. (mM)	Counter-ion	pK _a (25°C) ¹
4.3–5.3	N-Methylpiperazine	20	Cl ⁻	4.75
4.8–5.8	Piperazine	20	Cl ⁻ or HCOO ⁻	5.33
5.5–6.5	L-Histidine	20	Cl ⁻	6.04
6.0–7.0	Bis-Tris	20	Cl ⁻	6.48
6.2–7.2	Bis-Tris propane	20	Cl ⁻	6.65
8.6–9.6	Bis-Tris propane	20	Cl ⁻	9.10
7.3–8.3	Triethanolamine	20	Cl ⁻ or CH ₃ COO ⁻	7.76
7.6–8.6	Tris	20	Cl ⁻	8.07
8.0–9.0	N-Methyldiethanolamine	20	SO ₄ ²⁻	8.52
8.0–9.0	N-Methyldiethanolamine	50	Cl ⁻ or CH ₃ COO ⁻	8.52
8.4–9.4	Diethanolamine	20 at pH 8.4 50 at pH 8.8	Cl ⁻	8.88
8.4–9.4	Propane 1,3-diamino	20	Cl ⁻	8.88
9.0–10.0	Ethanolamine	20	Cl ⁻	9.50
9.2–10.2	Piperazine	20	Cl ⁻	9.73
10.0–11.0	Propane 1,3-diamino	20	Cl ⁻	10.55
10.6–11.6	Piperidine	20	Cl ⁻	11.12

4 洗脱



对于 DEAE 葡聚糖凝胶和 QAE 葡聚糖凝胶填料, 使用递增的盐梯度 (线性或者阶梯洗脱) 或递减的 pH 梯度 (线性或者阶梯洗脱) 实现洗脱。

5 再生

根据样品的性质, 通常通过用高离子强度缓冲液 (例如 1-2M NaCl) 洗涤, 或降低缓冲液 pH, 然后在平衡缓冲液中重新平衡来进行再生。 在一些应用中, 诸如变性蛋白质或脂质的物质在再生过程中洗脱不下来, 则需要通过在位清洗程序 CIP 来清除。

6 在位清洗 (CIP)

通过用 5 倍柱床体积的 2M NaCl 溶液来除去结合的蛋白质。

通过用 2 倍柱床体积的 0.1M NaOH 溶液清洗填料, 随后用大量纯水或者缓冲液彻底清洗直至不含碱, 从而除去沉淀的蛋白质, 疏水结合的蛋白质和脂蛋白。

用高达 70% 的乙醇或 30% 异丙醇溶液清洗填料, 可以除去强疏水结合的蛋白质, 脂蛋白和脂质。

请避免使用磷酸, 醋酸缓冲液. 而可以采用 Tris-HCl 作为使用 Buffer。

5 保存

用过的产品应密封贮存在 4°C (保存溶液为 20%乙醇), 通风、干燥、清洁的地方。不能冷冻。

用过的柱子贮存在 4°C (20%乙醇)。

未用过的产品室温密闭保存。

注意事项:

1. 上样之前, 样品必须经过膜过滤及去除色素, 否则杂质及色素会被吸附到填料上, 影响填料的正常使用。
2. 在使用过程中, 避免使用高浓度的强酸强碱, 酸和碱的浓度应低于 0.15 摩尔。碱会使流速变慢。
3. 离子交换介质在选择层析柱时, 避免使用细长柱, 会增加实验操作压力。
4. 不同的样品, 吸附和洗脱方法不相同, 可以根据相关的文献进行。